

**Pengaruh Beban Latihan-Renang Tunggal dan Berulang Berlebihan
Terhadap Kadar Glutation Jaringan Hepar Tikus Putih
(*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar**

Wulid Lailah Magfirah¹, Willy Handoko², Virhan Novianry³

¹ Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

² Departemen Fisiologi Medik, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

³ Departemen Biokimia Medik, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. Latihan fisik bertujuan untuk meningkatkan atau mempertahankan kebugaran fisik. Tetapi latihan fisik yang berlebihan dapat menyebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menyebabkan stres oksidatif sehingga dapat terjadi penurunan kadar antioksidan endogen, salah satunya glutathione tereduksi (GSH). **Metode.** Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan rancangan acak lengkap *posttest only control group design*. Dua puluh tujuh tikus galur wistar dibagi menjadi tiga kelompok: kelompok kontrol, kelompok beban latihan-renang tunggal (P1) dan kelompok beban latihan-renang berulang (P2). Latihan-renang tunggal diberikan selama satu hari pada hari ketujuh dan latihan-renang berulang diberikan selama tujuh hari dengan durasi 45 menit per hari. Pada akhir perlakuan, organ hepar diambil untuk dilakukan pengukuran kadar GSH dengan metode *Ellman*, kemudian dianalisis dengan *One-way Analysis of Varians* (ANOVA) yang dilanjutkan dengan *Post hoc test Least Significant Differences* (LSD). **Hasil.** Kadar GSH pada kontrol, kelompok P1 dan kelompok P2 adalah 4,69 mg/L, 22,13 mg/L, dan 4,95 mg/L. Kadar GSH kelompok P1 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Kadar GSH kelompok P2 tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Kadar GSH kelompok P1 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok P2 ($p < 0,05$). **Kesimpulan.** Beban latihan-renang tunggal berlebihan menyebabkan peningkatan kadar GSH jaringan hepar.

Kata Kunci: Beban latihan-renang tunggal dan berulang, kadar GSH hepar, tikus jantan galur wistar

Background. Exercise is structured and repetitive body movement to improve or maintain physical fitness. However, excessive physical exercise can lead to an increase in the production of reactive oxygen species (ROS), which can cause oxidative stress and decrease the levels of endogenous antioxidants, such as reduced glutathione (GSH). **Method.** This study was an experimental study with a randomized and posttest only control group design. Twenty-seven wistar rats were divided into three groups: control group, single-swimming exercise (P1) and repeated-swimming exercise (P2). Single-swimming exercise were given for one days and repeated-swimming exercise were given for seven days with a duration of 45 minutes per day. At the end of the exercise, the liver were dissected to measured levels of GSH with Ellman method. Analyzed by One-way Analysis of Varians (ANOVA) and followed by Post hoc test Least Significant Differences (LSD). **Result.** GSH levels in control group, P1 group and P2 group were 4,69 mg/L, 22,13 mg/L, and 4,95 mg/L respectively. GSH levels of P1 group was significantly higher than the control group ($p < 0.05$). There were no significant differences of GSH level between P2 group and control group ($p > 0.05$). GSH levels P1 group was significantly higher than P2 group ($p < 0.05$). **Conclusions.** Single excessive swimming exercise cause increase of liver GSH level.

Keyword: Single- and repeated- excessive swimming exercise, liver GSH level, male wistar rats

PENDAHULUAN

Latihan fisik adalah bagian dari aktivitas fisik yang direncanakan, terstruktur, dan berulang-ulang dengan tujuan peningkatan atau pemeliharaan satu atau lebih komponen kebugaran fisik. Latihan fisik memberikan dampak yang positif terhadap kesehatan karena dapat menurunkan resiko penyakit kardiovaskular, hipertensi, stroke, osteoporosis, diabetes melitus tipe 2, obesitas, kanker kolon dan depresi apabila dilakukan secara teratur.¹ Selain memberikan dampak positif, latihan fisik juga dapat memberikan dampak negatif bagi kesehatan apabila dilakukan secara berlebihan. Latihan fisik yang dilakukan secara berlebihan sehingga melebihi kemampuan tubuh untuk melakukan pemulihan dapat menyebabkan terjadinya kelelahan kronis dan penurunan kinerja yang biasanya terjadi pada atlet.²

Hasil studi menunjukkan setidaknya sekali sepanjang karirnya sebanyak 37% atlet professional dari

berbagai cabang olahraga pernah melakukan latihan fisik secara berlebihan.³ Hasil survei dari beberapa negara menemukan bahwa 35% perenang dewasa pernah melakukan latihan fisik secara berlebihan setidaknya sekali selama menjadi atlet.²

Hepar merupakan organ yang memiliki peran penting dalam tubuh yaitu sebagai organ yang mendetoksifikasi racun dan penghasil protein plasma.⁴ Latihan fisik berlebihan dapat menyebabkan terjadinya penurunan suplai oksigen ke organ hepar sehingga terjadi disfungsi mitokondria di sel hepar. Disfungsi mitokondria di sel hepar dapat menyebabkan terjadinya peningkatan produksi senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) di hepar. Peningkatan ROS di hepar dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif.⁵ Stres oksidatif adalah keadaan yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara antioksidan dan prooksidan di dalam tubuh. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan oksidatif akibat

terjadinya reaksi peroksidasi lipid, protein, termasuk enzim dan *deoxyribonucleic acid* (DNA).⁶ Pengaruh latihan fisik terhadap hepar yang pertama kali diteliti oleh Fojt E *et al* menemukan bahwa latihan fisik intensitas berat menurunkan aliran darah pada hepar secara sementara sehingga menyebabkan keadaan hipoksia.⁷ Penelitian lain yang dilakukan oleh Hu Y *et al* menemukan bahwa latihan renang yang dilakukan sebanyak sekali dan tujuh kali pada hewan coba tikus menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid pada jaringan hepar.⁸ Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Agung Prasetyo menunjukkan gambaran histopatologi kerusakan hepatosit pada hepar tikus yang diberikan beban latihan renang tunggal dan berulang berlebihan.⁹ Tubuh memiliki antioksidan endogen yaitu glutathion (GSH) yang berfungsi sebagai proteksi jaringan dari kerusakan oksidatif. Hepar merupakan organ yang mengandung GSH dengan kadar paling tinggi dibandingkan dengan jaringan yang lain.

GSH mencegah pembentukan radikal bebas dengan berfungsi sebagai substrat dalam reaksi penguraian senyawa non radikal H₂O₂ menjadi molekul H₂O dan O₂. Stres oksidatif yang disebabkan oleh latihan fisik berlebihan dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar GSH di jaringan hepar.¹⁰ Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin mengetahui mengenai pengaruh beban latihan-renang tunggal dan berulang berlebihan terhadap kadar GSH jaringan hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar.

METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental rancang acak lengkap (RAL) dengan desain *post test only control group*. Peneliti memberikan perlakuan terhadap subjek berupa hewan coba di laboratorium.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi

Klinis (pemeliharaan hewan uji dan pemberian perlakuan), Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr Soedarso (pembuatan sediaan histopatologi) dan Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura (pembacaan preparat histopatologi). Penelitian dilakukan pada Desember 2015 (perlakuan hewan coba), Januari-Oktober 2016 (organ tersimpan di *freezer*), dan November 2016 (pengukuran kadar GSH jaringan hepar).

Tahap Penelitian

Aklimatisasi Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar sebanyak 27 ekor yang berumur 2 – 3 bulan dengan berat badan 180 – 220 gr diaklimatisasi dengan lingkungan laboratorium selama 3 hari dan diberi makan pakan standar dan minum *ad libitum*.

Perlakuan pada Hewan Coba

Setelah diaklimatisasi selama 3 hari, tikus dikelompokkan secara acak menjadi 3 kelompok perlakuan, meliputi

kelompok kontrol (K), kelompok beban latihan-renang tunggal berlebihan (P1) dan beban latihan renang berulang berlebihan (P2). Latihan-renang tunggal diberikan selama satu hari dan latihan-renang berulang diberikan selama tujuh hari dengan durasi 45 menit per hari.

Pengukuran Kadar GSH Jaringan Hepar

1. Pembuatan Homogenat Jaringan Hepar

Jaringan hepar ditimbang seberat 100 mg, kemudian dihomogenisasi menggunakan *Tissue Lyser II* dalam larutan dapar *Phosphate Buffer Saline* (PBS) 0,1M pH 7,4 steril sebanyak 500 µl. Setelah homogen ditambahkan lagi larutan PBS sebanyak 500 µl dan dihomogenkan kembali. Kemudian lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 5000 g selama 5 menit. Pisahkan supernatan dan pellet, masukkan supernatant dalam tabung baru. Homogenat dapat disimpan terlebih dahulu di dalam lemari es suhu -20°C sebelum pemeriksaan

2. Pengukuran Kadar GSH Jaringan

Pengukuran kadar GSH dilakukan satu kali pada saat *posttest*. Pengukuran kadar GSH jaringan digunakan Metode *Ellman* dengan reagen *Ditiobisnitro Benzoate* (DTNB). Prinsip pengukuran yaitu reaksi antara DTNB dengan GSH menghasilkan senyawa *Dianion Tionitro Benzoate* yang berwarna kuning.¹¹

Pembuatan Kurva Standar GSH

Standar larutan GSH: 2 mg/ml dalam dapar fosfat 0,1 M pH 8,0. Dari larutan tersebut ambil 0 μ L, 1 μ L, 2 μ L, 4 μ L, 5 μ L, 10 μ L, 15 μ L, 20 μ L, 25 μ L, dan 50 μ L, masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi. Larutan dapar fosfat 0,1 M pH 8,0 ditambahkan ke dalam masing-masing tabung tersebut sehingga volumenya menjadi 9 ml. Satu larutan TCA 5% ditambahkan kedalam masing-masing tabung tersebut, dan kocok sampai homogen. Dari masing-masing tabung diambil 4,0 ml dan ditambahkan 0,05 reagen DTNB. Sisa larutan dari masing-masing tabung tersebut digunakan sebagai

blanko. Selanjutnya diukur serapan absorban standar dan blanko dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 412 nm. Dari data pengukuran tersebut dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai serapan sebagai ordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar sebagai absis (X).¹¹

Pengukuran Kadar GSH Sampel

Kedalam 0,25 ml homogenat ditambahkan 8,90 ml dapar fosfat pH 8,0 dan 1,0 ml TCA 5%, kemudian dikocok hingga homogen. Kemudian larutan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 5 menit. Dari larutan tersebut, diambil 4,0 ml supernatan, ditambahkan 0,05 ml DTNB, dan diamkan selama 1 jam. Sisa larutan supernatan digunakan sebagai blanko. Selanjutnya diukur serapan absorban sampel dan blanko pada panjang gelombang 412 nm.¹¹

HASIL

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan nilai rerata kadar

GSH jaringan hepar . Kadar GSH jaringan hepar tertinggi terdapat pada kelompok P1 yang diberikan beban latihan renang tunggal berlebihan. Kadar GSH jaringan hepar terendah terdapat pada kelompok K yang tidak diberikan latihan renang berlebihan. Uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* didapatkan $p < 0,05$ dan setelah dilakukan transformasi data didapatkan hasil data tidak terdistribusi normal. Oleh karena itu, dilakukan uji nonparametrik yaitu *Kruskal-Wallis Test* dan *Mann-Whitney Test*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Kemudian dilanjutkan ke uji *Mann-Whitney*. Kadar GSH jaringan hepar tikus kelompok K lebih rendah dibandingkan kadar GSH jaringan hepar tikus kelompok P1 dengan uji statistik menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Kadar GSH jaringan hepar tikus kontrol lebih rendah dibandingkan kadar GSH jaringan hepar tikus kelompok P2 dengan uji statistik menunjukkan nilai signifikansi $p > 0,05$. Kadar GSH jaringan hepar tikus kelompok

P1 lebih tinggi dibandingkan kadar GSH jaringan hepar tikus kelompok P2 dengan uji statistik menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$.

PEMBAHASAN

Latihan fisik merupakan pergerakan tubuh yang terencana, terstruktur dan dilakukan berulang-ulang yang bertujuan untuk meningkatkan atau mempertahankan satu atau lebih komponen kebugaran fisik.¹ Latihan fisik yang berlebihan dapat memberikan dampak yang buruk bagi tubuh. Penelitian yang dilakukan oleh Lima *et al*¹² melaporkan bahwa latihan renang yang dilakukan hingga kelelahan menyebabkan peningkatan ROS pada organ hepar. Peningkatan produksi ROS dapat menyebabkan terjadinya keadaan stres oksidatif.

Pada saat latihan fisik berlebihan dapat menyebabkan terjadinya jejas iskemia reperfusi. Jejas iskemia reperfusi merupakan suatu kondisi patologis yang

ditandai dengan penurunan suplai oksigen ke organ diikuti oleh pemulihan perfusi dan reoksigenasi.¹³ Selama latihan fisik berat terjadi peningkatan aliran darah ke otot-otot rangka akibat peningkatan kebutuhan energi, sedangkan pada organ lain seperti hepar terjadi penurunan aliran darah yang menyebabkan terjadinya keadaan iskemia.¹⁴ Penurunan suplai O₂ ke sel hepar juga akan menyebabkan disfungsi pada mitokondria. Ketika latihan fisik berat berhenti, jaringan yang sebelumnya mengalami iskemia akan menerima O₂ dalam jumlah besar, kondisi ini disebut dengan reperfusi. Keadaan reperfusi menyebabkan peningkatan produksi ROS oleh sel yang mengalami disfungsi mitokondria akibat fosforilasi oksidatif yang tidak sempurna.¹⁵

Stres oksidatif adalah keadaan yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara antioksidan dan prooksidan di dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif akibat terjadinya reaksi peroksidasi lipid, protein termasuk enzim

dan DNA.⁶ Pada penelitian yang dilakukan oleh Hu *et al*⁸, terjadi peningkatan glukokortikoid dalam plasma hingga kadar maksimal setelah latihan renang selama 45 menit. Peningkatan kadar glukokortikoid menunjukkan adaptasi dari sel hepar terhadap keadaan stres. Oleh karena itu, pada penelitian ini hewan coba diberikan beban latihan renang berlebihan selama 45 menit. Latihan renang yang diberikan merupakan suatu stresor yang dapat menimbulkan keadaan stres oksidatif.

Tubuh memiliki antioksidan endogen yaitu glutathione tereduksi (GSH) yang berfungsi sebagai proteksi jaringan dari kerusakan oksidatif. GSH adalah tripeptida larut air yang terdiri dari tiga asam amino glutamin, sistein, dan glisin. GSH terdapat di seluruh jaringan tubuh mamalia dengan konsentrasi 1-10 mM (paling tinggi terdapat di hati). Biosintesis GSH meliputi dua tahap utama yang melibatkan enzim γ -glutamilsistein ligase (GCL) dan GSH sintetase (GS). Enzim GCL memediasi tahap pertama, yakni

reaksi yang memerlukan ATP dengan glutamat dan sistein untuk membentuk dipeptida γ -glutamilsistein (γ GluCys). Selanjutnya, enzim GS mengkatalisasi tahap kedua, suatu reaksi pembentukan GSH melalui pengikatan γ GluCys dan glisin dan juga membutuhkan ATP sebagai sumber energi. GSH di dalam sel yang terdapat pada hepar tikus akan secara cepat diperbaharui dengan waktu paruh 2-3 jam. Fungsi GSH sebagai antioksidan terutama dilakukan oleh GSH peroksidase (GPx) yang mengkatalis reaksi oksidasi GSH menjadi GSSG. GSSG akan direduksi kembali menjadi GSH oleh GSSG reduktase yang dibantu oleh NADPH (dibentuk dari siklus redoks). Rasio GSH:GSSG harus dipertahankan ($\log \frac{[GSH]^2}{[GSSG]}$), sehingga ketidaseimbangan ketika terjadi stres oksidatif dapat mengurangi kemampuan sel mereduksi GSSG menjadi GSH, maka GSSG akan diekspor ke luar sel atau bereaksi dengan protein sulfhidril membentuk ikatan disulfida. Dengan

demikian, stres oksidatif yang berat dapat mendepleksi GSH.¹⁰

Kadar GSH jaringan hepar kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan kelompok K. Secara statistik terdapat perbedaan bermakna antar kedua kelompok tersebut. Hasil tidak sesuai dengan hipotesis, namun hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Somani *et al* yang dilakukan pada tikus dengan berat 300 g yang diberikan latihan menggunakan *treadmill* yang mana kecepatan dan derajat kemiringan ditingkatkan setiap 5 menit menunjukkan bahwa pemberian latihan *treadmill* tunggal menyebabkan peningkatan aktivitas antioksidan pada jantung tikus dibandingkan dengan latihan *treadmill* berulang.¹⁶ Selain itu, hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lima *et al* menemukan bahwa latihan renang selama 6 minggu dapat meningkatkan GSH dan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD).¹² Peningkatan kadar GSH jaringan hepar

tikus kelompok P1 disebabkan oleh mekanisme kompensasi dari sistem pertahanan antioksidan terhadap peningkatan produksi radikal bebas akibat latihan renang berlebihan. Semakin banyak produksi radikal bebas maka sistem pertahanan antioksidan juga akan memproduksi lebih banyak GSH untuk mencegah terjadinya kerusakan oksidatif.¹⁶

Kadar GSH jaringan hepar tikus kelompok P2 jika dibandingkan dengan kelompok K tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian oleh Araujo *et al* yang dilakukan pada tikus yang direnangkan selama satu jam dengan beban tambahan pada toraks didapatkan bahwa, pada pemberian perlakuan renang berulang didapatkan bahwa pada minggu ke-4, terdapat peningkatan peroksidasi lipid yang mengalami penurunan setelah minggu ke 6. Ini menunjukkan bahwa peningkatan peroksidasi lipid pada minggu ke-4 bertujuan sebagai stimulus selular untuk adaptasi terhadap latihan renang dan

untuk menstimulasi produksi antioksidan untuk menangkal radikal bebas yang disebabkan karena olahraga renang tersebut.¹⁷ Latihan fisik yang dilakukan secara berulang dalam jangka waktu yang lama pada manusia menyebabkan adaptasi kardiovaskular berupa peningkatan curah jantung hingga 6 – 8 kali mencapai 40 L/menit. Peningkatan curah jantung tersebut akan meningkatkan aliran darah ke hepar, yang akan mencegah terjadinya iskemia hepar sehingga mengurangi peningkatan radikal bebas.¹⁸

Kadar GSH jaringan hepar tikus kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan kelompok P2. Secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna antar kedua kelompok. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hu *et al* yang melaporkan bahwa peroksidasi lipid yang terjadi pada kelompok latihan renang tunggal lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok latihan renang berulang.⁸ Semakin tinggi derajat kerusakan hepar yang ditandai dengan tingginya

peroksidasi lipid pada latihan renang tunggal berlebihan menunjukkan bahwa semakin banyaknya produksi radikal bebas sehingga sistem pertahanan akan memproduksi GSH lebih banyak.¹⁹

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh beban latihan renang berlebihan terhadap kadar GSH jaringan hepar. Latihan renang tunggal berlebihan menyebabkan peningkatan kadar GSH jaringan hepar secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol yang diduga merupakan proses kompensasi dari antioksidan endogen tubuh untuk menangkal radikal bebas yang meningkat akibat latihan renang berlebihan. Sedangkan pada kelompok perlakuan renang berulang berlebihan tidak terapat peningkatan kadar GSH yang bermakna dibandingkan kelompok kontrol yang diduga disebabkan oleh respon adaptasi tubuh terhadap latihan renang berlebihan secara berulang.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa beban latihan-renang tunggal berlebihan menyebabkan peningkatan kadar GSH jaringan hepar.

DAFTAR PUSTAKA

1. American College of Sports Medicine, Thompson WR, editors. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. 8. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. 380 p.
2. Kreher JB, Schwartz JB. Overtraining Syndrome: A Practical Guide. Sports Health Multidiscip Approach. 2012 Mar 1;4(2):128–38.
3. Kenttä G, Hassmén P, Raglin JS. Training Practices and Overtraining Syndrome in Swedish Age-Group Athletes. Int J Sports Med. 2001 Aug;22(6):460–5.
4. Sherwood L. Fisiologi manusia : dari sel ke sistem. 6th ed. Jakarta: EGC; 2011.
5. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. Physiol Rev. 2008 Oct 1;88(4):1243–76.
6. Murray RK. Biokimia Harper. 29th ed. Jakarta: EGC; 2016.
7. Fojt E, Ekelund LG, Hultman E. Enzyme activities in hepatic venous blood under strenuous physical exercise. Pflugers Arch. 1976 Feb 24;361(3):287–96.
8. Hu Y, GURSOY E, Cardounel A, Kalimi M. Biological Effects of Single and Repeated Swimming Stress in Male Rats: Beneficial Effects of Glucocorticoids. Endocrine. 2000;13(1):123–30.
9. Prasetyo A. Pengaruh Beban Latihan-Renang Tunggal dan Berulang yang Berlebihan terhadap Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar. 2016.
10. Lu SC. Glutathione synthesis. Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj. 2013 May;1830(5):3143–53.
11. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Biophys. 1959 May;82(1):70–7.
12. Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, Dobrachinski F, de Carvalho NR, Royes LFF,

- et al. Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. *PloS One*. 2013;8(2):e55668.
13. Di Meo S, Venditti P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biol Signals Recept*. 2001 Apr;10(1–2):125–40.
 14. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med*. 2011 Nov 7;17(11):1391–401.
 15. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Robbins SL, editors. *Robbins basic pathology*. 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2013. 910 p.
 16. Somani SM, Frank S, Rybak LP. Responses of antioxidant system to acute and trained exercise in rat heart subcellular fractions. *Pharmacol Biochem Behav*. 1995 Aug;51(4):627–34.
 17. Araujo LC da C, de Souza ILL, Vasconcelos LHC, Brito A de F, Queiroga FR, Silva AS, et al. Chronic aerobic swimming exercise promotes functional and morphological changes in rat ileum. *Biosci Rep*. 2015 Sep 30;35(5).
 18. Silverthorn DU, Johnson BR, Ober WC, Garrison CW, Silverthorn AC. *Human physiology: an integrated approach*. 6th ed. Boston: Pearson Education; 2013.
 19. Cesquini M, Torsoni MA, Ogo SH. Adaptive Response to Swimming Exercise: Antioxidant Systems and Lipid Peroxidation. *J Anti-Aging Med*. 1999 Jan;2(4):357–64.